

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1897-98. — N° 79.

DE L'INFLUENCE
DE LA TENSION GAZEUSE
SUR LES MICROBES

ET EN PARTICULIER
SUR LE BACILLE DE LA DIPHTÉRIE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 13 janvier 1898

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

André NEUMANN

Né à Saumur, le 16 Février 1876

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

TOULOUSE
IMPRIMERIE LAGARDE & SEBILLE
2, RUE ROMIGUIÈRES, 2

—
1898



FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1897-98. — N° 79.

DE L'INFLUENCE
DE LA TENSION GAZEUSE
SUR LES MICROBES

ET EN PARTICULIER

SUR LE BACILLE DE LA DIPHTÉRIE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 13 janvier 1898

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

André NEUMANN

Né à Saumur. le 16 Février 1876

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE



TOULOUSE
IMPRIMERIE LAGARDE & SEBILLE
2, RUE ROMIGUIÈRES, 2

—
1898

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET..... DOYEN.
LÉPINE..... ASSESSEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, BOUCHACOURT, CHAUVEAU, BERNE.

PROFESSEURS

Cliniques médicales.....	MM. LÉPINE.
Cliniques chirurgicales.....	BONDET.
Clinique obstétricale et Accouchements.....	OLLIER.
Clinique ophtalmologique.....	PONCET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	FOCHIER.
Clinique des maladies mentales.....	GAYET.
Physique médicale.....	GAULLETON.
Chimie médicale et pharmaceutique.....	PIERRET.
Chimie organique et Toxicologie.....	MONOYER.
Matière médicale et Botanique.....	HUGOUNENQ.
Zoologie et Anatomie comparée.....	CAZENEUVE.
Anatomie.....	FLORENCE.
Anatomie générale et Histologie.....	LORTET.
Physiologie.....	TESTUT.
Pathologie interne.....	RENAUT.
Pathologie externe.....	MORAT.
Pathologie et Thérapeutique générales.....	TEISSIER.
Anatomie pathologique.....	AUGAGNEUR.
Médecine opératoire.....	MAYET.
Médecine expérimentale et comparée.....	TRIPPIER.
Médecine légale.....	POLLOSSON (M.)
Hygiène.....	ARLOING.
Thérapeutique.....	LACASSAGNE.
Pharmacie.....	BARD
	SOULIER.
	CROLAS.

PROFESSEUR ADJOINT

Clinique des Maladies des Femmes..... LAROYENNE.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des Maladies des Enfants.....	WEILL ^{agréé}
Accouchements.....	POLLOSSON (A.)—
Botanique.....	BEAUVISAGE. —

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
CHANDELUX.	POLLOSSON (A.)	BOYER.	BARRAL.
BEAUVISAGE.	ROCHET.	VALLAS.	MOREAU.
CONDAMIN.	ROLLET.	SIRAUD.	CAUSSE, chargé des
COURMONT.	ROQUE.	DURAND.	fonctions d'agréé.
DEVIC.	ROUX.	DOYON.	BORDIER, id.
GANGOLPHE.	COLLET.		

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. ARLOING, *Président*; M. WEILL, *Assesseur*;
MM. ROUX et COURMONT, *Agrégés*.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA GRAND'MÈRE

A MA SŒUR ET A MON FRÈRE

AUX MIENS ET A MES AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur ARLOING

PROFESSEUR DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE ET COMPARÉE,
DIRECTEUR DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE,
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES,
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Il est de tradition qu'au début d'un travail inaugural, l'auteur exprime sa reconnaissance à tous ceux qui l'ont aidé à arriver au terme de ses études médicales. Je me conforme d'autant plus volontiers à cet usage que je suis de ceux qui ont trouvé dans cette période de leur vie la plus bienveillante assistance, et le souvenir en est si intimement gravé au plus profond de moi-même que j'ai la conviction de le trouver toujours aussi vif qu'aujourd'hui.

M. le professeur Arloing n'a pas été seulement pour moi le maître savant et dévoué qu'ont appris à aimer tous ceux qui ont eu le bonheur d'être de ses élèves ; en toutes circonstances, j'ai trouvé chez lui les marques effectives de la plus grande bonté, l'accueil le plus bienveillant, les conseils les plus précieux. De plus, il m'a permis de fréquenter pendant deux ans son laboratoire de la Faculté et c'est avec la plus grande et la plus constante sollicitude qu'il a bien voulu diriger le travail que je présente aujourd'hui. Qu'il me permette de dire ici, très faiblement, les remerciements que je lui dois toujours.

Pendant les trois années passées à l'Ecole du service de santé militaire, Monsieur le Médecin Inspecteur et

Madame Kelsch m'ont toujours honoré de nombreux témoignages d'intérêt et de sympathies qui m'ont vivement touché. Ils voudront bien aussi agréer l'hommage de ma profonde gratitude.

J'ai reçu dans la famille Pierron tant de marques d'affectueuse sympathie que j'ai eu bien souvent l'illusion de retrouver à Lyon une nouvelle famille. Je n'oublierai jamais combien j'ai été heureux de me sentir si peu isolé.

Pendant tout le cours de mes recherches au Laboratoire de médecine expérimentale et comparée, M. le professeur-agrégé J. Courmont m'a toujours prodigué, avec la plus affable bienveillance, des conseils que sa grande expérience me rendaient précieux. Je le prie de vouloir bien agréer mes remerciements les plus vifs et les plus sincères.

Au milieu de nombreux et excellents camarades, j'ai été assez heureux pour rencontrer quelques amis ; je prie les docteurs F. Arloing et O. Ménard, et M. Paul Pierron, de croire à ma bien sincère amitié.

Enfin, je remercie tous mes camarades de promotion qui m'ont aidé à passer gaiement mes trois années d'internat.

A tous ceux que je viens de nommer, encore une fois merci ; car je leur dois de pouvoir dire aujourd'hui que cette ville de Lyon, où je ne suis pas arrivé sans tristesse, je ne la quitte pas sans regret.

A. N.

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

Les êtres vivants, à quelque règne qu'ils appartiennent et quel que soit leur degré de simplicité ou de complexité, sont tous sensibles aux mêmes agents physiques. Chaleur, lumière, pression, électricité, etc. sont autant de causes modificatrices, dont les variations ont une action directe sur la vitalité des êtres qui sont sous leur dépendance. Ce fait est, d'ailleurs, si évident qu'il frappa d'abord les premiers médecins, et l'on peut dire que la médecine ne fut, à son enfance, que l'étude des réactions de l'organisme vis-à-vis des modifications survenues dans les conditions extérieures de la vie.

Mais, sans remonter jusqu'à ces premiers âges, où les variations atmosphériques, l'état de la température et de la pression, l'humidité de l'air, etc., etc. constituaient à peu près les seules causes étiologiques connues, il faut arriver jusqu'à notre siècle pour trouver une étude vraiment scientifique de l'influence de ces divers agents sur les êtres animés.

Nous n'avons pas eu l'intention de résumer ici tous les travaux auxquels cette étude a donné naissance ; c'eût été un sujet beaucoup trop vaste pour le temps dont nous disposions. Et puisqu'il nous fallait choisir, nous nous

sommes bornés à la pression. Ce n'est certes pas un terrain nouveau, si l'on songe aux remarquables travaux auxquels il a donné lieu, et que nous rappellerons dans un instant; mais la question est cependant loin d'être épuisée, et nous serons heureux si nos expériences personnelles peuvent combler quelques lacunes et apporter quelques données nouvelles.

Nous allons d'abord exposer, d'une façon aussi brève mais aussi complète qu'il nous sera possible, l'histoire des travaux qui ont été élaborés à propos de l'influence de la pression sur les phénomènes vitaux.

C'est en 1871 que parut le premier travail important. Sous le titre de *Recherches expérimentales sur l'influence que les changements dans la pression barométrique exercent sur les phénomènes de la vie*, Paul Bert présenta à l'Académie des sciences, en une série de douze notes, les résultats de ses remarquables expériences (1).

Il étudia d'abord longuement la façon dont les animaux supportent les variations de pression. Puis il vérifia ses conclusions en s'adressant aux plantes, et enfin aux micro-organismes.

Il recueillit d'abord des *faits relatifs à la mort des animaux soumis à des pressions inférieures à la pression atmosphérique moyenne* (2). Lorsqu'on diminue

(1) Ces travaux sont reproduits dans le grand ouvrage de Paul Bert, intitulé : *La pression barométrique. Recherches de physiologie expérimentale* (Paris, 1878; 1 vol. gr. in-8°, de 1168 pages avec 80 fig. dans le texte). Ils ont valu à leur auteur le grand prix biennal de l'Institut en 1875, et sont d'emblée devenus classiques.

(2) Paul BERT, Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, t. LXXVI, p. 213; 1871.

brusquement la pression à laquelle est soumis un vertébré à sang chaud, jusqu'à 15 ou 18 centimètres de mercure, on voit l'animal bondir, être pris de convulsions et succomber rapidement avec une écume sanglante dans les bronches. En opérant graduellement, on obtient une accoutumance de la part des animaux, qui peuvent vivre ainsi sous de très faibles pressions (jusqu'à 12 centimètres de mercure pour les mammifères). Si l'on diminue encore la pression, l'animal succombera asphyxié. La mort est donc le résultat, dans le premier cas, des phénomènes mécaniques de la décompression ; dans le second, du manque d'oxygène, dont la tension est trop faible pour se fixer sur le sang.

Les résultats des expériences de P. Bert sur les effets de la diminution de pression concordent avec ce qui a été observé dans les voyages en montagnes et dans les ascensions en ballon. Dans la première partie de *La pression barométrique*, il a consacré près de 400 pages à rapporter les observations faites dans ces conditions, les théories et les expériences instituées avant lui pour les contrôler et les appuyer. Les travaux faits dans ces dernières années montrent que, malgré les critiques, l'œuvre de Paul Bert survit et repose sur des bases solides, modifiée seulement dans plusieurs de ses détails (1).

(1) Consulter notamment : EGLI-SINCLAIR, *Le mal de montagne* Revue scientifique, 1894, 1^{er} sem., p. 172. — A. CHAUVEAU, *Le mal de montagne*. Ibid., p. 353. — G. PHILIPPON, *Effets produits sur les animaux par la compression et la décompression*. Journal de l'anatomie, 1894, pp. 296 et 425 ; 1895, p. 361. — GRAWITZ, *Ueber die Einwirkung des Höhenklimas auf die Zusammensetzung des Blutes*. Berlin. klin. Wochenschr., 1895 ; Semaine médicale, 1895, p. 307 ; Rev. des sc. méd., 25 avril 1896, p. 523. — LAZARUS, *Bergfahrten und Luftfahrten in*

Paul Bert étudie ensuite la *mort dans l'air comprimé sous des pressions supérieures à la pression atmosphérique* (1). L'augmentation de pression, si rapidement qu'on la produise, ne paraît exercer sur l'animal presque aucun effet immédiat. La respiration se ralentit jusqu'à l'apparition des phénomènes asphyxiques comme dans toute atmosphère confinée. Les animaux meurent tous au bout du même temps, quelle que soit la pression. Plus elle est forte, moins l'animal altère l'air qui est à sa disposition, et la quantité produite d'acide carbonique reste toujours la même. Il périt nécessairement quand il a dans son sang veineux une quantité d'acide carbonique capable de faire équilibre à celle qui est contenue dans l'air, quelle que soit d'ailleurs la quantité d'acide carbonique que renferment l'air et le sang. Le sang est encore sursaturé d'oxygène; l'animal est donc mort empoisonné par l'acide carbonique.

Les animaux meurent au bout du même temps, c'est-à-dire quand ils ont formé la quantité nécessaire d'acide carbonique, résultat obtenu dans le même temps sous toutes les pressions.

En employant des atmosphères suroxygénées et comprimées équivalant à des pressions d'air beaucoup plus considérables, Paul Bert voit survenir la mort dans des conditions différentes (2). Vers quatre ou cinq atmosphères

ihrem Einfluss auf den menschlichen Organismus. Berlin. klin. Woch., 1895; Semaine méd., 1895, p. 315; Rev. des sc. méd., 25 avril 1896, p. 524. — Discussion à la Soc. méd. de Berlin (Ibid., Ibid.). — MOSSO, C. R. Soc. de biologie, 1896.

(1) Paul BERT, C. R. de l'Acad. des sciences, t. LXXVI, p. 503; 1871.

(2) Paul BERT. Ibid., t. LXXIV, p. 617, 1872; t. LXXVI, p. 443; 1873.

res apparaissent des signes de malaise ; au bout de dix à quinze minutes, des convulsions, puis la mort.

Le sang contient normalement 18 à 20 c. c. d'oxygène pour 100 c. c. de sang. Lorsqu'il en contient 35% la mort survient. Cette quantité ne représente donc pas le double de la dose normale. Or, on ne connaît pas de poison dont l'organisme puisse contenir impunément la moitié de la dose mortelle. L'oxygène serait donc, fait paradoxal, un poison plus redoutable qu'aucun autre connu.

L'empoisonnement est caractérisé par des convulsions que calme le chloroforme et qui sont dues à une exagération du pouvoir excito-moteur de la moelle. Il y a en même temps une diminution considérable et constante de la température interne, ce qui indique un ralentissement dans les phénomènes d'oxydation.

L'influence de l'oxygène s'exerce aussi sur les végétaux (1). Lorsqu'on diminue la pression, la *germination* se fait d'autant plus lentement que la pression est plus basse ; elle s'arrête entre 4 et 10 cent. de mercure, sans que la graine périsse. Il y a là un arrêt des oxydations nécessaires au développement, arrêt dû à la trop faible tension de l'oxygène.

Une augmentation de pression légère, de deux ou trois atmosphères, semble activer un peu la germination des semis ; mais à partir de quatre ou cinq atmosphères, il y a un ralentissement évident. Enfin, à de plus hautes pressions, la graine est tuée par son séjour dans l'air com-

(1) Paul BERT, Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, t. LXXVII, p. 1493 ; 1873.

primé. Cet effet funeste est dû exclusivement à la trop grande tension de l'oxygène. De plus, dans l'air comprimé la consommation d'oxygène est bien moindre qu'à la pression normale. Comme pour les animaux, la trop grande tension de l'oxygène ralentit les oxydations.

La même influence s'exerce sur la vie des organismes inférieurs (1). La putréfaction d'un morceau de muscle soumis à 24 atmosphères d'air est considérablement ralentie ; de même, l'acidification lactique du lait, l'alcalinisation de l'urine. Le *Mycoderma aceti* ne pousse pas dans l'oxygène comprimé à cinq atmosphères. Un grand nombre de phénomènes chimiques du groupe des fermentations sont ralentis, sinon même arrêtés complètement par l'oxygène sous pression.

En résumé, l'oxygène serait un poison. Ce serait un poison convulsivant du système nerveux, analogue à la strychnine. Il détermine de plus un abaissement de la température qui indique une altération profonde dans les actes intimes de la nutrition. La nature générale de l'altération des phénomènes nutritifs est une diminution dans l'intensité des phénomènes d'oxydation.

Deux ans plus tard, P. Bert revient sur cette question, dans une note qui, par ses conséquences, pouvait avoir une grande importance dans la théorie générale des maladies virulentes. Etudiant l'*Influence de l'air comprimé sur les fermentations* (2), il établit que « toutes les fermentations dont la condition d'apparition est la présence

(1) P. BERT, C. R. de l'Acad. des sciences, t. LXXVII, p. 531 ; 1873.

(2) P. BERT, Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, t. LXXX, p. 1579 ; 1875.

d'un être vivant sont arrêtées définitivement par l'action, même transitoire, de l'oxygène comprimé, tandis que les fermentations dues à l'action d'une matière dissoute résistent parfaitement à cette influence ». Et P. Bert se demandait si « le sang charbonneux, le sang des maladies infectieuses, les liquides pathologiques, les virus, les venins doivent leur action à des corpuscules analogues aux vrais ferments, ou à une altération des liquides agissant à la manière d'un ferment diastasique ».

Il crut apporter en 1877 la solution de cette question dans une note intitulée : *De l'emploi de l'oxygène à haute pression comme procédé d'investigation physiologique; des venins et des virus* (1). En ce qui concerne les virus, il prit du vaccin, du pus morveux, du sang charbonneux chargé de bactériidies et les soumit pendant plus d'une semaine à l'influence de l'oxygène sous de hautes tensions (correspondant à environ 50 atmosphères d'air). La virulence persistait. Paul Bert en conclut, conformément à ses recherches antérieures, que ni la morve, ni le vaccin, ni le charbon « ne doivent leurs propriétés virulentes à des êtres vivants ou à des cellules vivantes; il y a là une matière qui se rapproche, par ce caractère, des substances diastasiques ».

Or, les expériences de Davaine, celles de Pasteur et Joubert surtout (2) semblaient avoir démontré, de la façon la plus péremptoire, qu'un organisme microscopique, la bactériodie, est la cause unique du charbon. La

(1) P. BERT, *Ibid.*, t. LXXXIV, p. 1130; 1877. (Cette note est le développement d'une autre, lue à la Société de biologie, le 13 janvier 1877).

(2) PASTEUR et JOUBERT, *Etude sur la maladie charbonneuse*. C. R., Acad. des sciences, t. LXXXIV, p. 900; 1877.

contradiction entre des expérimentateurs aussi éminents, et sur un point d'une telle importance, étonnait à bon droit. Pasteur ne tarda pas à donner l'explication expérimentale des résultats obtenus par P. Bert et à montrer que les conclusions qu'il en avait tirées péchaient par une généralisation injustifiée des premières données.

Le 16 juillet 1877, dans une communication mémorable (1), Pasteur établissait les différences si profondes qui séparent les bactéries de leurs spores au point de vue de la résistance aux agents physiques. Tandis que, sous la forme de filaments, la bactériodie se montre faible, qu'elle périt facilement au contact de l'oxygène comprimé à dix ou douze atmosphères, on peut « maintenir les corpuscules-germes pendant vingt-et-un jours à dix atmosphères d'oxygène pur, sans leur faire perdre leur faculté de reproduction. La compression appliquée à du sang charbonneux peut donc donner lieu à deux résultats en apparence tout à fait contradictoires. Si le sang ne renferme que des bactériodies pleines, il perd toute virulence; s'il contient des bactériodies à points brillants, il est aussi dangereux avant qu'après la compression. »

Ainsi se trouvait brillamment résolu ce problème ardu, ainsi mise en évidence l'importance prédominante des corpuscules-germes dans la propagation des maladies virulentes et, une fois de plus, la nature vivante et organisée des virus. P. Bert, qui avait suivi ces nouvelles expériences, en reconnut immédiatement toute la

1) PASTEUR et JOUBERT, *Charbon et septicémie*. Ibid., t. LXXXV, p. 101; 1877.

haute signification et insista lui-même sur les causes qui l'avaient induit en erreur (1).

Les recherches de Paul Bert sur les variations de pression avaient donc été l'occasion d'un nouveau et important progrès dans la connaissance de la nature intime de la virulence.

Il nous faut maintenant franchir plusieurs années pour voir remettre à l'ordre du jour la question de l'influence des hautes pressions sur les êtres vivants. L'occasion en fut donnée par les voyages scientifiques du Travailleur et du Talisman (1880-83). Les expérimentateurs, s'efforçant de réaliser les conditions de la vie dans les profondeurs de la mer, furent amenés à étudier l'influence qui nous occupe. Tel fut le point de départ de plusieurs communications qui parurent presque simultanément dans les diverses revues scientifiques et que nous allons rappeler.

M. P. Régnard exposa le résultat de ses recherches à la Société de biologie (2). D'après ses expériences, les ferments solubles soumis à 1000 atmosphères continuent leur action : par exemple, la salive transforme l'amidon en sucre. Au contraire, les ferments figurés, tels que la levure de bière, soumis pendant une heure à cette pression, en sortent comme endormis : la fermentation qu'ils produisent est très lente. La levure placée dans l'eau

(1) P. BERT, C. R. de la Société de biologie, séance du 23 juin 1877 ; C. R. de l'Acad. des sciences, t. LXXXV, p. 293 ; 1877.

(2) P. RÉGNARD, *Note sur les conditions de la vie dans les profondeurs de la mer*. Mémoires de la Société de biologie, 1884, pp. 164 et 187.

sucrée à 600 atmosphères n'agit pas sous pression, mais se réveille après décompression.

Les animaux tombent instantanément endormis; mais, retirés du tube, ils se réveillent après quelques minutes et reprennent tous leurs mouvements. Un poisson meurt à 300 atmosphères. A 400, il est absolument rigide et il a augmenté de poids. Il semble que l'eau comprimée agisse à la façon de l'oxygène comme un poison tétanisant. Elle infiltre aussi les tissus.

Quant aux végétaux, des algues d'eau douce soumises pendant plusieurs heures à 600 atmosphères ont continué à vivre à la sortie de l'appareil. Mais quelques jours après, elles étaient mortes, jaunes et tombaient en décomposition.

Peu de temps après cette communication, M. Certes présenta à la Société de biologie et à l'Académie des sciences un travail sur le même sujet (1). Il s'efforça de s'éloigner le moins possible des conditions de la nature en évitant les compressions et décompressions brusques, et en ne dépassant pas 400 ou 500 atmosphères.

A 100 et 300 atmosphères, certains organismes sont tués; d'autres sortent de l'appareil aussi vivaces qu'ils y étaient entrés; d'autres enfin tombent dans une sorte de vie latente.

A 450 et 500 atmosphères, le nombre des organismes

(1) CERTES, *Notés relatives à l'action des hautes pressions sur la vitalité des micro-organismes d'eau douce et d'eau de mer*. Mémoires de la Société de biologie, 1884, p. 220.

CERTES, *De l'action des hautes pressions sur les phénomènes de la putréfaction, sur la vitalité des micro-organismes d'eau douce et d'eau de mer*. Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, t. XCIX, p. 385; 1884.

CERTES et COCHIN. *Action des hautes pressions sur la vitalité de la*

vivants diminue; celui des organismes tués ou tombés en vie latente augmente.

« Il semble donc, dit l'auteur, que, dans les conditions où je me suis placé, l'effet des hautes pressions varie, non seulement d'espèce à espèce, mais aussi, dans la même espèce, d'individu à individu. Il semble surtout qu'il n'est pas indifférent de produire la compression ou la décompression plus ou moins rapidement. »

Du sang charbonneux, soumis à 600 atmosphères pendant vingt-quatre heures, a conservé toute sa virulence, et les cultures qui en ont été faites ont pleinement réussi.

La vitalité de la levure de bière n'est pas détruite par des pressions de 300 à 400 atmosphères pendant plusieurs jours. A ces pressions, la fermentation alcoolique se produit toujours au bout d'un certain temps, et le dégagement d'acide carbonique, réduit à quelques bulles, se fait tumultueusement au premier choc du tube.

L'influence de la pression fut encore étudiée en 1887 par Matthews (1). Par la production de fermentations en vase clos, cet auteur obtint des pressions de 10 et 12 atmosphères. A ces pressions, la levure, légèrement modifiée dans ses propriétés morphologiques, n'est nullement influencée dans sa vitalité.

Leure et sur les phénomènes de la fermentation. Mémoires de la Société de biologie, 1884, p. 639.

(1) MATTHEWS Ch. G., *Ueber die Grösse des Druckes, welcher durch Gährung in geschlossenen Gefassen erzeugt wird.* Centralblatt für Bakteriologie, 1887, p. 246.

En même temps que paraissaient ces travaux, M. Chauveau poursuivait une série de recherches d'un ordre sensiblement différent. Il commençait ses remarquables expériences relatives à l'influence de l'oxygène sous pression augmentée sur les cultures du *Bacillus anthracis*. Mais, avant de les exposer, il est bon de faire remarquer en quoi diffère le mode d'expérimentation. Sans doute, il s'agit toujours de pression; mais tandis que, dans les expériences précédentes, elle était obtenue à l'aide de la pompe de Cailletet et s'exerçait sur les êtres vivants par l'intermédiaire du milieu liquide où ils étaient plongés, le tube étant soigneusement vidé d'air, dans les expériences qui vont suivre, elle est due à la compression de l'atmosphère dans laquelle sont placées les cultures. C'est ce qui expliquera des contradictions qui ne sont qu'apparentes.

Le résultat de ces expériences fut exposé à l'Académie des sciences; les premières furent faites par M. Vossnessenski, sous l'inspiration de M. Chauveau (1). En voici le résumé :

Paul Bert avait montré que l'oxygène comprimé à 20 atmosphères tue le *Bacillus anthracis*. Ne pourrait-on pas, avec des pressions modérées, obtenir, non la mort de la culture, mais simplement son atténuation ?

Des cultures sont faites en couche mince et en couche épaisse. Toutes se développent bien jusqu'à 13 atmosphères d'air. En couche mince, il se forme de bonne

(1) VOSSNESSENSKI, *Influence de l'oxygène sous pression augmentée sur les cultures du Bacillus anthracis*. Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, t. XCVIII, p. 314; 1884.

heure un grand nombre de spores qui tombent au fond. En couche épaisse, le bouillon est uniformément trouble ; les spores sont beaucoup moins nombreuses. Toutes ces cultures sont très virulentes, surtout celles en couche mince.

Ainsi, l'oxygène sous pression modérée, loin d'atténuer la culture de *Bacillus anthracis*, semble en augmenter la virulence. Au-dessus de 13 atmosphères, c'est le contraire qui a lieu, et on peut obtenir la mort de la culture.

Quant à l'action combinée de la chaleur et de la pression, le microbe résiste mieux à la chaleur lorsqu'il est soumis à des pressions inférieures à 15 atmosphères d'air. La culture en couche mince accentue l'influence exercée par les autres conditions ambiantes.

L'oxygène, avant de tuer les cultures virulentes, doit, à une tension un peu inférieure, atténuer simplement leur activité. La constatation d'une modification de la virulence exigeait des inoculations à certaines espèces animales (1).

Les expériences, faites avec le cobaye, n'ont pas vérifié l'hypothèse. Les cultures étaient ou un peu plus actives (pressions modérées), ou complètement inactives (pressions fortes). C'est que la zone des variations de la virulence est fort étroite pour le cobaye ; ne le serait-elle pas moins pour d'autres espèces, pour le mouton par exemple ?

(1) CHAUVEAU, *De l'atténuation des cultures virulentes par l'oxygène comprimé*. Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, t. XCVIII, p. 1232 ; 1884.

L'auteur s'aperçut alors qu'une légère augmentation de tension avive la virulence du bacille pour le cobaye et le mouton. Une augmentation plus forte accroît la virulence pour le cobaye, la diminue un peu pour le mouton. Enfin, une tension un peu plus rapprochée encore de celle qui tue le microbe, produit une culture qui est toujours mortelle pour le cobaye, mais ne l'est plus pour le mouton. La culture ainsi atténuée produit chez le mouton des troubles passagers plus ou moins accentués, mais qui disparaissent en quelques jours.

Le sang de cobayes morts à la suite d'inoculation de *Bacillus anthracis* est habituellement très virulent pour le mouton ; il est, au contraire, complètement inactif quand les cobayes ont succombé à une inoculation de culture faite sous pression. Ces cultures, d'une atténuation si sûre, sont aussi inactives pour le bœuf que pour le mouton.

Voici donc, au point de vue pratique, les avantages que présente cette méthode d'atténuation (1).

Les cultures, directement atténuées, ou filles de cultures atténuées, ont toujours les propriétés suivantes :

- 1° Une seule inoculation confère l'immunité ;
- 2° Malgré cette activité du virus, il est au moins aussi inoffensif que celui préparé par les autres méthodes ;
- 3° Les cultures gardent leurs propriétés plusieurs mois sans qu'il soit nécessaire de prendre aucune précaution pour assurer leur conservation.

(1) CHAUVÉAU, *Application à l'inoculation préventive du sang de rate ou fièvre splénique, de la méthode d'atténuation des virus par l'oxygène comprimé*. Comptes rendus de l'Académie des sciences, t. Cl, p. 45 ; 1885.

Toutes ces propositions sont rigoureusement démontrées, tant par l'expérimentation que par la pratique ; car les cultures sus-indiquées ont été employées avec succès pour vacciner des moutons contre le charbon.

Quelle est la nature des transformations que subit le virus du sang de rate, atténué par culture dans l'oxygène comprimé ? (1) Si nous récapitulons les faits, nous voyons que du virus charbonneux fort, placé à huit atmosphères d'air à 38° ou 39° pendant trois semaines ne tue plus que la moitié des moutons inoculés. Les deuxième et troisième générations faites avec ce virus et dans les mêmes conditions sont de plus en plus atténuées. Enfin la quatrième génération se montre presque toujours inoffensive pour le mouton, mais mortelle pour le cobaye.

Pendant cette phase, les cultures sont de plus en plus sensibles à l'action de l'oxygène. Deux ou trois ballons sur vingt restent clairs à la deuxième génération ; plus de la moitié à la quatrième. C'est là un présage de la fixité de l'atténuation.

Les premières générations, propagées à l'air libre, reprennent vite leur activité malfaisante. Au contraire, pour les dernières générations, celles dont les séries contenaient beaucoup de matras restés stériles, l'atténuation se transmet jusqu'à la septième et même la dixième génération. Cette fixité est si complète que les bacilles de ces générations restent inoffensifs pour le mouton, même après avoir passé par le cobaye.

Interprétons maintenant ces faits ?

(1) CHAUVÉAU, *Sur la nature des transformations...* Ibid., t. CI, p. 142 ; 1885.

Les rapports entre le virus fort et le virus faible ne sont-ils pas semblables à ceux de la variole et de la vaccine? En admettant même que la variole soit la souche de la vaccine, ce qu'il a été impossible de démontrer irréfutablement jusqu'à ce jour, il faut reconnaître que la fixité de l'atténuation du virus charbonneux par l'oxygène comprimé, si parfaite qu'elle semble, est cependant loin d'être aussi absolue que l'atténuation naturelle de la vaccine par rapport à la variole. « Tout concourt à démontrer que ces nouveaux virus sont plutôt, au moins pour le moment, de simples familles auxquelles on a réussi à imprimer quelques caractères spéciaux, certains signes de dégénérescence, susceptibles de se transmettre par hérédité, avec conservation de la tendance à revenir au type primitif, comme cela arrive dans les plantes et les animaux supérieurs. »

La perte complète de toute virulence dans les microbes infectieux peut-elle être considérée comme un indice de transformation spécifique? (1). Non, car cette atténuation totale du *Bacillus anthracis*, rendu neutre ou indifférent par l'oxygène comprimé, ne suffit pas pour enlever à ce microbe son caractère infectieux. Ce caractère lui est conservé par la persistance de l'aptitude à créer l'immunité anti-charbonneuse. Il n'est donc pas transformé spécifiquement, il appartient encore à la souche d'où il est issu.

De plus, les races de *Bacillus anthracis* atténuées par

(1) CHAUVÉAU, *Sur les propriétés vaccinales des microbes ci-dessus pathogènes, transformés en microbes simplement saprogènes, dépourvus de toute propriété virulente*. Académie des sciences, t. CVIII, p. 319; 1889.

l'oxygène comprimé sont capables de récupérer leur virulence (1), lorsqu'elles sont soumises à des procédés spéciaux de culture *in vitro*, tels que l'addition au bouillon d'une certaine quantité de sang frais, la diminution de la tension d'oxygène, la pauvreté du bouillon, etc.

Comment expliquer maintenant la disparition et la réapparition de la virulence ? Le microbe sécrétant la matière infectante est-il transformé en un microbe sécrétant une matière vaccinante ?

M. Chauveau a répondu négativement. Il croyait que le microbe ne sécrétait qu'une seule substance, dont l'activité était diminuée, dans le premier cas, au point de ne plus pouvoir produire l'infection mortelle, mais était cependant encore assez grande pour pouvoir créer l'infection rudimentaire d'où provient l'immunité. Aujourd'hui, il faudrait faire des réserves, car l'existence de ces deux matières a été établie dans les cultures de quelques microbes. Il serait donc possible que, sous l'influence de la pression, les aptitudes à produire ces matières fussent modifiées.

« Il résulte de tout ce qui précède que les microbes pathogènes, en perdant ou en récupérant la propriété infectieuse, ne subissent pas, à proprement parler, de transformation spécifique. »

En 1891, M. D'Arsonval (2), cherchant un procédé

(1) CHAUEAU, *Les microbes ci-dessus pathogènes n'ayant conservé, en apparence, que la propriété de végéter en dehors des milieux vivants, peuvent-ils récupérer leur propriété infectieuse primitive ?* Académie des sciences, t. CVIII, p. 379 ; 1889.

(2) D'ARSONVAL, *Action microbicide de l'acide carbonique à haute pression.* Archives de physiologie, 1891, p. 388.

pour stériliser les liquides organiques glycélinés sans les soumettre à la chaleur, fut amené à étudier l'action microbicide de l'acide carbonique à haute pression. D'après les expériences qu'il établit, des liquides organiques, sang, lait, urine, se conservent très bien sans putréfaction dans une atmosphère d'acide carbonique à 40 kilogr., de même du bouillon et de l'urine soumis pendant 5 heures seulement et à froid à 40 atmosphères d'acide carbonique. La stérilisation est donc aussi parfaite que par l'autoclave à 120°.

De plus, des micro-organismes bien déterminés, levure de bière, bacille pyocyanique, sont tués définitivement à 50 atmosphères d'acide carbonique. A des pressions inférieures, on les rend simplement malades et l'on retarde leur développement.

Une pression de 90 atmosphères détruit presque instantanément tous les germes vivants, en respectant les albuminoïdes.

L'année suivante parut un travail de Schaeffer et Ed. de Freudenreich sur *La résistance des bactéries aux hautes pressions combinées avec une élévation de température* (1). Les expériences de ces auteurs eurent pour but de chercher un procédé qui permit de stériliser le lait sans en modifier les qualités. Elles portèrent « sur du lait et sur deux microbes très résistants, la bactérie charbonneuse et un bacille trouvé dans un lait insuffisamment stérilisé par une chaleur de 102° ». A titre de comparaison, ils y joignirent « un micro-organisme moins résistant, le bacille typhique. »

(1) Annales de micrographie, t. IV, p. 105-119; 1892.

Les auteurs opérèrent avec l'acide carbonique liquéfié du commerce et de l'oxygène comprimé de Berlin. La chaleur était obtenue au bain-marie.

Expériences avec l'acide carbonique comprimé. — Il résulte de ces expériences que l'acide carbonique sous pression d'environ 50 atmosphères n'exerce, même après sept jours, qu'une action bactéricide assez faible. Seul le bacille typhique et, dans un cas, la bactérie charbonneuse privée de spores furent tués. Les bacilles plus résistants supportent parfaitement bien cette pression, et même la virulence ne paraît nullement atteinte.

Expériences avec l'oxygène comprimé. — D'après ces expériences, « une pression d'oxygène de 60 à 64 atmosphères, jointe à une température de 60° à 68°, n'a pas exercé d'action stérilisante, même après huit heures. Cette pression et cette température n'ont pas même atténué la virulence du charbon. »

« Il nous paraît résulter de l'ensemble des résultats transmis plus haut, disent les auteurs, qu'on ne peut espérer, comme le faisaient entrevoir les expériences de M. d'Arsonval, arriver à stériliser les liquides supportant mal une chaleur élevée, par l'emploi combiné d'une température d'environ 65° et d'une pression de 80 à 90 atmosphères d'acide carbonique ou d'environ 60 atmosphères d'oxygène, même au bout de plusieurs heures. »

C'est à des conclusions semblables, contraires à celles de M. d'Arsonval, qu'arrivèrent également MM. Sabrazès et Bazin (1). Dans le but de contrôler les résultats obtenus

(1) SABRAZÈS et BAZIN, *L'acide carbonique à haute pression peut-il être considéré comme un antiseptique puissant?* C. R. de la Société de biologie, 1893, p. 909.

par M. d'Arsonval, ces expérimentateurs soumi-
rent à des pressions de 59 et 60 atmosphères d'acide carbonique des
cultures *en plein développement* de staphylocoque doré,
de bacille typhique, de *Bacterium coli*, de bactéri-
die charbonneuse. Dans tous les cas, ces micro-organismes
ne furent modifiés d'une façon notable ni dans leurs
propriétés morphologiques et biologiques, ni dans leur
développement.

M. d'Arsonval maintint néanmoins ses conclusions(1),
en faisant remarquer qu'elles s'appliquent à la stérili-
sation de liquides organiques contenant assez de gly-
cérine pour marquer 15° à 20° à l'aréomètre Baumé.
Dans ces conditions, négligées par MM. Sabrazès et
Bazin, l'action combinée de la glycérine et de l'acide
carbonique à 50 atmosphères permet d'obtenir une
stérilisation complète.

A peu près à la même époque, M. le professeur Nocard
entreprit d'appliquer les conclusions de M. d'Arsonval à
trois virus particuliers : ceux de la rage, de la vaccine,
et de la clavelée. Nous ne saurions mieux faire que de
donner *in extenso* le relevé de ces expériences, restées
inédites, et que nous devons à la bienveillante obligeance
de M. le professeur Nocard. Qu'il nous permette de lui
exprimer ici toute notre reconnaissance pour le document
précieux dont notre travail se trouve enrichi.

(1) D'ARSONVAL, *Remarque à propos des notes de MM. Sabrazès et
Bazin*. C. R. de la Société de biologie, 1893, p. 914.

Expériences sur l'action de l'acide carbonique sous pression,

Par M. le Professeur NOCARD (d'Alfort).

1^o RAGE.

Les faits publiés par M. d'Arsonval m'avaient fait espérer trouver, dans les fortes pressions d'acide carbonique, un moyen simple de tuer le virus rabique sans altérer les produits solubles (toxines) que doivent renfermer les cerveaux rabiques. La fragilité du virus rendait improbable sa résistance aux fortes pressions.

a) Le 20 mars 1891, un cerveau entier de lapin (rabique de passage) est trituré, broyé dans 30 centimètres cubes d'eau bouillie, filtré sur linge, puis soumis pendant 36 heures à une pression d'acide carbonique qui a varié pendant la durée de l'expérience de 100 à 60 atmosphères.

Le 23 mars, j'injecte l'émulsion (10 centimètres cubes sous la peau et 20 centimètres cubes dans la veine du jarret) à une jeune chienne pesant 16 kilos.

Une trace de la même émulsion est inoculée par trépanation à un lapin vigoureux ; ce lapin est pris de rage le 30 mars, dans les délais ordinaires.

La chienne est prise, le 30 mars, d'accès convulsifs, d'une extrême violence, plutôt épileptiformes que rabiformes ; elle meurt pendant la nuit. Son bulbe, inoculé par trépanation à un autre chien, le tue le 9 avril, avec tous les symptômes de la rage.

b) Le 26 mars, même expérience sur un petit chien de 14 kilos ; celui-ci reçoit dans la veine du jarret 35 centimètres cubes d'une émulsion très fine de cerveau rabique (lapin de passage), émulsion soumise pendant 48 heures à une pression d'acide carbonique supérieure à 70 atmosphères.

Le 5 avril, ce chien est paralysé du derrière ; il a la voix rabique ; la paralysie se généralise très vite ; il meurt le 6.

c) Quatre cerveaux de lapins de passage, pesant ensemble 20 grammes, sont broyés et soumis pendant 48 heures à la pression de 100 à 80 atmosphères d'acide carbonique ; puis on en fait une fine émulsion dans 40 centimètres cubes d'eau. Le tout est injecté, le

28 mars 1891, en cinq endroits différents, sous la peau de deux chiens de 22 et 26 kilos.

Une trace de l'émulsion, injectée dans l'œil d'un gros lapin, lui donne la rage le 8 avril; il meurt le 11.

L'un des chiens est manifestement paraplégique le 7 avril; il a la voix rabique; il meurt le 8, avec l'estomac plein de paille et du sucre dans l'urine.

L'autre n'est pris que le 8; il a de la gêne du train postérieur; il se gratte et se mord avec fureur aux points d'inoculation; il meurt le 9, entièrement paralysé.

d) Le 18 juillet 1894, une très fine émulsion de bulbe de chien enragé (rage des rues) est mise sous pression d'acide carbonique (60 atmosphères) pendant 24 heures.

Le 21 juillet, l'émulsion est inoculée à deux lapins, l'une dans l'œil, l'autre sous la dure-mère. Celui-ci est enragé le 8 août; celui-là le 13 août (1).

2° VACCIN.

a) Le 5 juin 1891, avec de la pulpe vaccinale préparée par M. Vaillard, du Val-de-Grâce, soumise pendant 48 heures à une pression de 80-60 atmosphères d'acide carbonique, j'inocule par vingt scarifications une génisse normande.

L'éruption n'apparaît que le 11 juin, deux jours plus tard que sur la génisse *témoin*, vaccinée avec la même pulpe, non comprimée. Elle reste maigre; beaucoup de scarifications sont stériles.

b) 18 juillet 1894. Je mets sous pression d'acide carbonique à 60 atmosphères, pendant 24 heures: 1° un tube ouvert de vaccin pur; 2° un tube ouvert de pulpe vaccinale glycinée.

(1) La résistance du virus rabique à l'air comprimé avait été étudiée en 1886 par un auteur italien, A. Celli. D'après cet auteur, la virulence d'une émulsion de moelle rabique résiste à 60 heures de séjour dans de l'air comprimé à 7 ou 8 atmosphères. (A. CELLI, *Alcune proprietà del virus rabifico*, Bull. d. R. Accad. med. di Roma, VIII, 1886-87, p. 475-478.)

Le 21 juillet, j'inocule les deux vaccins à une génisse normande : dix scarifications de pulpe glycinée en arrière de l'épaule gauche, dix autres de vaccin pur en arrière de l'épaule droite.

Le 25 juillet, toutes les scarifications du côté droit ont donné de superbes pustules. Du côté gauche, rien encore.

Le 27, trois scarifications sur les dix du côté gauche sont pustuleuses ; ces pustules sont maigres, comme avortées et suintent à peine.

3° CLAVELÉE.

Le 13 juin 1891, j'inocule un mouton neuf par trois piqûres à la queue, avec du claveau recueilli le 1^{er}, mélangé avec une quantité égale de glycérine pure et soumis, le 2 juin, à une pression d'acide carbonique de 80-60 atmosphères, prolongée pendant 48 heures.

Les trois piqûres ont donné de petites pustules, apparues seulement le 23 juin, et promptement flétries ; l'animal a cependant été immunisé ; car, reinoculé le 9 juillet avec du claveau frais, il n'a pas eu de pustule.

Le 18 juillet 1894, je mets sous pression d'acide carbonique à 60 atmosphères, pendant 24 heures, un tube ouvert de claveau pur.

Le 21 juillet, un mouton south-down est inoculé par trois piqûres à la queue, avec le claveau comprimé. Le 30, trois superbes pustules, fluctuantes, sécrétant une grande quantité de claveau.

Nota. — L'atténuation observée sur la pulpe vaccinale comprimée et sur le claveau glyciné me paraît due surtout à l'action (accrue par la pression) de la glycérine.

En 1893, parut un travail de M. Jaccard sur l'influence de la pression des gaz sur le développement des végétaux (1). D'après cet auteur, la dépression (10 à 40 cen-

(1) JACCARD, *Influence de la pression des gaz sur le développement des végétaux*. Mémoires de la Société de biologie, 1893, p. 408.

timètres de mercure) produit chez les végétaux une croissance deux, trois et six fois plus grande qu'à la pression normale, avec variations morphologiques ; les tiges sont plus longues, plus minces, plus ramifiées ; il y a aussi beaucoup de racines aériennes.

La compression (3 et 6 atmosphères) produit aussi une augmentation de la croissance, mais beaucoup plus faible.

Si l'on combine des mélanges gazeux de façon à pouvoir faire des compressions et des décompressions tout en conservant une tension d'oxygène égale à celle de la pression normale, on voit que, s'il est vrai que la tension d'oxygène joue un rôle prépondérant, la pression absolue a aussi un rôle manifeste.

La même année, MM. d'Arsonval et Charrin entreprirent l'étude des divers agents physiques sur les micro-organismes (2). Ils expérimentèrent sur le bacille pyocyanique, qui a l'avantage de révéler facilement, grâce à sa matière colorante, les plus faibles modifications survenues dans ses propriétés. Voici le résultat de leurs expériences pour ce qui concerne la pression.

Une culture de bacille pyocyanique soumise à 50 atmosphères d'acide carbonique estensemencée toutes les deux heures sur agar. Au bout de deux heures, la fonction chromogène est augmentée (influence de l'acidité de l'acide carbonique), mais la pullulation diminue déjà. Au

(2) D'ARSONVAL ET CHARRIN, *Action des divers agents physiques sur les bactéries*. Comptes rendus de la Société de biologie, 1893, page 532 et 1028 ; La Semaine médicale, 1893, n° 32 ; Archives de physiologie, (5), VI, p. 335 ; 1894.

CHARRIN, *Influence des agents atmosphériques sur les micro-organismes*, XI^e Congrès de médecine à Rome, 1894.

bout de quatre heures, la fonction chromogène diminue comme la prolifération. Enfin, presque toujours après six heures, et toujours après dix, le bacille est tué.

« Nous ne saurions trop répéter, disent les auteurs, combien est importante l'action des divers agents physiques sur ces infiniments petits..... Le jour où nous connaissons les modifications que ces agents font subir à la vitalité de la cellule, ce jour-là nous serons près d'avoir une partie de l'explication des faits obscurs rangés jusqu'ici sous le vocable mystérieux de génie morbide, génie épidémique, etc.... ».

Enfin, le dernier travail qui ait été publié sur l'influence de la pression, est celui de M. H. Roger (1) en 1894. Cet auteur étudia l'action qu'exerce sur les bactéries la compression du milieu liquide où elles végètent.

1° *Influence des chocs brusques et répétés.* — Un appareil spécial donne des pressions instantanées de 200 à 250 kil. par cent. carré. Les microbes employés (staphylocoque doré, *Bacillus coli*, streptocoque de l'érysipèle, bactéridie charbonneuse) soumis à cinq ou dix chocs successifs, n'ont nullement été influencés.

2° *Action des compressions lentes.* — Les microbes précédents ont supporté, sans nul inconvénient, 100 atmosphères pendant cinq ou six minutes.

Une pression plus haute encore est étudiée ensuite, Elle s'est élevée progressivement à 3.000 atmosphères dans l'espace de dix minutes et maintenue à ce chiffre

(1) H. ROGER, *Action des hautes pressions sur quelques bactéries*, C. R. de l'Académie des sciences, 3 décembre 1894; Archives de physiologie, 1895, p. 12.

pendant deux minutes. Puis, la décompression est faite rapidement, en dix secondes. Sous ces conditions, le streptocoque est atteint dans sa végétabilité et dans sa virulence; il ne produit plus la mort chez le lapin, mais simplement un érysipèle de l'oreille.

Le charbon sporulé n'est que légèrement atténué dans sa virulence seulement. Les cultures asporogènes sont très atténuées dans leur végétabilité et dans leur virulence.

En résumé, les bactéries ne sont influencées qu'à de très hautes pressions. En admettant même que ce sont ces pressions énormes qui agissent et non les variations thermiques ou la décompression, elles dépassent de beaucoup les variations cosmiques actuelles, qui ne peuvent jouer aucun rôle sur les modifications de leur virulence.

On pourrait conclure comme M. Roger, si l'on envisage seulement l'action de la pression sur des individus adultes et non sur des générations d'individus. Mais les effets obtenus par l'action d'une cause aussi passagère que celle qui est mise en œuvre dans les expériences précédentes n'autorisent pas à conclure que des influences cosmiques agissant lentement et longuement, même avec bien moins d'intensité, sur des microbes en voie de prolifération et sur plusieurs générations successives, ne pourraient entraîner des modifications plus profondes.

*
* * *

De tous les travaux que nous venons de résumer, et qui comprennent à peu près tout ce qui a été écrit touchant l'influence de la pression sur les microorganismes, il ressort nettement ce fait : c'est que les résultats

expérimentaux varient considérablement suivant que la pression à laquelle est soumise l'être vivant est obtenue par la compression directe du liquide dans lequel il est placé, ou au contraire par la compression d'une atmosphère gazeuse. Dans le premier cas, nous avons vu des bactéries supporter sans presque aucun inconvénient des pressions énormes de 3.000 atmosphères. Dans le second, des pressions relativement très faibles ont suffi pour produire des modifications profondes de la vitalité des micro-organismes. Il est bien évident que, dans ce cas, les effets puissants du gaz comprimé sont dus, non pas à la pression proprement dite qu'il exerce sur les microbes, mais aux modifications que sa dissolution imprime au liquide dans lequel ils végètent, sa compression n'intervenant que pour favoriser sa dissolution dans ce liquide. En un mot, le gaz comprimé est, dans ce cas, peut-être bien moins un agent physique qu'un agent chimique.

De plus, dans l'étude des atmosphères comprimées, il y a encore lieu de remarquer que la question a été envisagée de deux façons différentes.

La pression et la tension du gaz dans l'atmosphère comprimée autour des microbes ont été étudiées tantôt comme agents bactéricides, tantôt comme des modificateurs légers de la forme et des propriétés. Dans le premier cas, ce sont des cultures toutes formées, des microbes pour ainsi dire adultes, que l'on soumet à de hautes pressions pour essayer de les tuer. Dans le second cas, ce sont des cultures récemmentensemencées, ce sont des microbes en voie d'évolution, que l'on entretient de génération en génération sous des tensions gazeuses modérées, pour leur imprimer certaines modifications.

C'est ce second point de vue qui va nous préoccuper, car c'est celui qui s'est montré le plus fécond en résultats. Nous avons songé, sous l'inspiration et la direction de M. le professeur Arloing, à appliquer nos modestes efforts à l'étude du bacille de la diphtérie, que personne jusqu'ici n'a soumis à ce genre d'expériences. Il est intéressant de connaître tous les procédés capables de modifier ce microbe, dont l'usage est si précieux dans les instituts sérothérapiques; car de ces connaissances peuvent découler des applications importantes dans la préparation des sujets producteurs de sérum thérapeutique. Tel est le but qui a guidé notre choix. Nous aurions voulu pouvoir présenter un travail complet et définitif sur cette question. Le temps nous fait malheureusement défaut pour multiplier nos recherches autant que nous le souhaiterions. Nous nous contentons donc de publier aujourd'hui le résultat de celles que nous avons pu faire, nous réservant de les poursuivre si l'occasion nous en est offerte.

Le programme que nous avions à suivre était tracé d'avance. Il était calqué sur celui de MM. Chauveau et Wossnessenski. Il est cependant un côté de la pathogénie microbienne, à peine soupçonné à l'époque où ces expérimentateurs poursuivaient leurs travaux, qui a pris aujourd'hui une grande importance; nous voulons parler des qualités des toxines produites par un microbe dans son milieu de culture. En ce qui concerne le bacille de Loeffler, cette question est particulièrement intéressante. Nous avons, par conséquent, ajouté au programme de MM. Chauveau et Wossnessenski l'étude des modifications imprimées par la compression des gaz aux bacilles d'une part, aux toxines de l'autre.

Voici donc le programme des questions que nous avons successivement étudiées :

**Influence des atmosphères comprimées sur le bacille
de Loeffler.**

CHAPITRE I^{er}

§ 1^{er}. — *Influence des atmosphères comprimées d'air pur et d'oxygène pur sur la végétation des cultures en milieux liquides et sur milieux solides.*

§ 2. — *Influence des atmosphères comprimées d'air pur et d'oxygène pur sur la morphologie des individus.*

CHAPITRE II

§ 1^{er}. — *Influence des atmosphères d'air comprimé sur la virulence de la culture.*

§ 2. — *Influence des atmosphères d'air comprimé sur la virulence du bacille et sur la toxicité du bouillon de culture.*

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

CHAPITRE I^{er}

Influence des atmosphères comprimées d'air pur et d'oxygène pur sur la végétation et la morphologie du Bacille de Lœffler.

§ 1^{er}

Influence des atmosphères comprimées sur la végétation des cultures en milieux liquides et sur milieux solides.

Nous rappellerons d'abord l'aspect d'une culture de bacille de Lœffler, en bouillon.

Vingt-quatre heures après l'ensemencement, le bouillon présente déjà un trouble très manifeste; il contient en suspension un grand nombre de grumeaux extrêmement fins, qui restent accolés aux parois du ballon; des grumeaux plus gros commencent à tomber au fond du récipient. De plus, la surface du bouillon est recouverte souvent d'un voile mince, qui va en s'épaississant les jours suivants; c'est là un caractère particulier aux cultures de diphthérie, mais qui n'est pas constant.

Les jours suivants, le trouble du bouillon s'accroît; les grumeaux se rassemblent au fond du vase et y for-

ment un dépôt; le voile, lorsqu'il existe, s'épaissit; enfin la coloration du bouillon, jaune clair au début, devient un peu plus foncée.

Au bout d'une vingtaine de jours, la culture a changé d'aspect; le bouillon est devenu presque transparent, les grumeaux sont tous tombés au fond du ballon, où ils forment un épais dépôt; des lambeaux de voile surnagent à la surface. Enfin le bouillon a pris une coloration jaune foncé.

Ces différents stades de l'évolution d'une culture de diphtérie sont, d'ailleurs, assez variables dans leur durée, suivant les échantillons considérés.

Voici maintenant la méthode d'après laquelle nous avons procédé à nos recherches.

Deux ballons, contenant la même quantité de bouillon, étaient fécondés avec la même quantité de semence. L'un de ces ballons était laissé à la pression atmosphérique. L'autre était renfermé dans un récipient en bronze, où l'on comprimait de l'air jusqu'au degré voulu. Ce dernier ballon était l'objet de précautions spéciales. Pour éviter que le capuchon de papier qui servait de bouchon ne fût projeté violemment, au moment de la décompression, par la détente plus ou moins brusque de l'air contenu dans le ballon, nous avons soin de fixer ce capuchon de papier au goulot qu'il recouvrait, au moyen de papier gommé. Si c'était un tube que nous devions renfermer, nous fixions également à l'extrémité du tube avec de la ficelle cirée le bouchon de coton qui en fermait l'orifice. Ces précautions prises, le récipient était transporté dans une étuve à 39°, où étaient

placés également les ballons ou les tubes qui devaient végéter à l'air libre. Après un temps variable, nous ouvrons le récipient et nous comparons les cultures.

1^o Influence des atmosphères comprimées d'air pur.

(a) *Sur les cultures en milieux liquides.*

EXPÉRIENCE I.

Le 7 juillet 1897, deux ballons de bouillon sont ensemencés avec un échantillon de diphtérie ayant bien conservé ses qualités végétatives, quoique très atténué dans ses propriétés virulentes. Un des ballons est mis sous pression à quatre atmosphères ; il y reste trois jours, pendant lesquels la pression tombe graduellement à deux atmosphères et demie, par suite d'une fuite de l'appareil.

Le 10 juillet, les cultures sont examinées. Le ballon qui a été laissé à la pression atmosphérique renferme une culture plus riche que l'autre : le trouble du bouillon est plus accusé ; les grumeaux tombés au fond sont plus abondants ; le bouillon a pris une coloration jaune un peu plus foncée ; à la surface est un voile très apparent, quoique peu épais. Le voile manque presque complètement dans le ballon qui sort du récipient à compression ; en quelques points cependant on aperçoit à la surface du liquide un fin mycoderme réticulé qui semble représenter des vestiges de voile. Les ballons sont remis à l'étuve dans les mêmes conditions que les jours précédents.

20 juillet. — Les cultures sont actuellement âgées de treize jours. Le ballon L (qui a été laissé à l'air *libre*) contient un bouillon dont le trouble est moins intense que celui du ballon C (*comprimé* dans le récipient).

La couleur de ce bouillon est beaucoup plus foncée. Le dépôt de grumeaux est bien plus abondant. A la surface est un voile très net. Dans le ballon C, on aperçoit un voile excessivement léger.

En un mot, le ballon L semble renfermer déjà une vieille culture, tandis que le ballon C renferme une culture d'aspect beaucoup plus jeune.

29 juillet. — L'aspect des deux cultures est très différent. La culture L a tout à fait l'apparence d'une vieille culture : le bouillon est presque transparent ; le dépôt de grumeaux est extrêmement épais ; la coloration jaune du bouillon est très foncée. La culture C semble beaucoup plus jeune ; on la croirait ensemencée bien plus tard que la culture sœur ; le voile de la surface est toujours presque imperceptible.

EXPÉRIENCE II.

Le 10 juillet nous avons fait des deuxième^s générations avec les cultures de l'expérience précédente. Le bouillon est, cette fois, contenu dans des tubes étroits, pour réduire la surface du liquide exposée à l'air comprimé. La génération fille de la culture C est placée dans le récipient, où l'air est comprimé à quatre atmosphères. La pression, descendant à trois atmosphères en vingt-quatre heures, est reportée tous les jours à quatre atmosphères.

20 juillet. — Les deux tubes ont à peu près le même aspect. Le trouble est égal dans les deux bouillons. Les grumeaux sont en même quantité. La coloration est la même. Un voile très léger recouvre la surface du bouillon laissé à l'air libre ; il n'y a pas trace de voile à la surface du bouillon comprimé.

23 juillet. — La culture L semble plus riche. Le bouillon est plus trouble. Le dépôt de grumeaux est égal ; la coloration est la même dans les deux tubes. Le voile est dans le même état qu'à l'examen précédent.

26 juillet. — Les cultures ont le même aspect. Le trouble est le même dans les deux tubes. De même, le dépôt de grumeaux. La coloration du bouillon du tube L est un peu plus foncée que celle du tube C. Le voile est un peu plus épais dans le tube L que les jours précédents.

29 juillet. — Dans la culture L, le bouillon est un peu plus

clair que dans le tube C. Le dépôt de grumeaux est un peu plus abondant. Le voile est bien apparent; il n'y a toujours pas trace de voile dans le tube C.

En somme, la différence dans l'évolution des deux cultures a été la même que dans l'expérience précédente, mais beaucoup moins marquée, la surface de liquide offerte à l'action de l'air comprimé étant beaucoup plus réduite.

EXPÉRIENCE III.

Le 20 juillet nous avons fait une troisième génération, de la même façon que la deuxième; le bouillon était contenu dans des ballons, qui ont été placés dans les mêmes conditions que les tubes de l'expérience II. La pression du récipient a été portée à quatre atmosphères.

23 juillet. — Le trouble est à peu près le même dans les deux ballons, peut-être un peu plus accusé dans le ballon L. Les grumeaux y sont aussi plus abondants. Il n'y a pas de trace de voile dans aucun des deux ballons.

29 juillet. — L'aspect des cultures est le même à première vue. Le trouble est aussi le même dans les deux ballons. Le dépôt de grumeaux est plus abondant dans le ballon L. Il n'y a toujours pas de voile.

EXPÉRIENCE IV.

Le 25 juillet nous avons fait des quatrièmes générations avec les cultures précédentes, et nous avons opéré d'une façon absolument semblable.

Le 26 juillet, le ballon L renferme une culture plus riche; le trouble est un peu plus épais; les grumeaux sont nombreux; à la surface flotte un léger voile qui n'existe pas du tout dans le ballon C.

EXPÉRIENCE V.

Le 26 juillet nous ensemençons des cinquièmes générations, et nous les soumettons aux mêmes conditions que les précédentes.

Le 29 juillet, les deux bouillons sont également troubles, mais les grumeaux sont assez abondants dans le ballon L, tandis qu'ils n'existent pas encore dans le ballon C. La coloration des bouillons est la même. Le voile est assez apparent dans le ballon L; il n'y en a pas trace dans le ballon C.

Ces expériences, reproduites encore plusieurs fois dans des conditions semblables, avec des échantillons différents, nous ont toujours fourni les mêmes résultats. Nous nous dispenserons de les exposer plus longuement.

Le relevé des expériences précédentes nous semble montrer, d'une façon suffisante, comment un milieu d'air comprimé à quatre atmosphères environ agit sur une culture de diphtérie.

Pendant une première phase de l'évolution, la culture qui a poussé à l'air libre est plus riche que l'autre. Puis, cette différence va en s'atténuant jusqu'à ce que la richesse de la culture comprimée ait atteint celle de la culture laissée à l'air libre. Enfin, tandis que celle-ci s'appauvrit progressivement par suite de la mort successive des individus, la richesse de la culture à l'air comprimé est, comparativement, de plus en plus grande. Il est probable qu'elle finirait aussi par diminuer, si l'expérience était prolongée assez longtemps; mais cela ne se produirait qu'au bout d'un temps beaucoup plus long que dans la culture laissée à l'air libre. Les différences apportées

dans la végétation des cultures par un air comprimé à quatre atmosphères se ramènent donc à un retard dans l'évolution de la culture soumise à la compression.

Nous avons voulu nous rendre compte de la persistance des modifications dues à l'air comprimé lorsqu'on en supprime l'action. Dans ce but, nous avons fait les deux expériences suivantes.

EXPÉRIENCE VI.

Le 10 novembre nous ensemençons deux ballons avec un nouvel échantillon de diphtérie. L'un est soumis à une pression d'air pur de six atmosphères, l'autre est laissé à l'air libre. Tous deux sont mis à l'étuve.

Le 12 novembre la pression du récipient est tombée à deux atmosphères et demie. La végétation est plus riche dans le ballon L. Le bouillon est sensiblement plus troublé. Les grumeaux sont assez abondants au fond du ballon L ; ils n'existent presque pas dans l'autre. Un léger voile flotte à la surface du bouillon du ballon L ; il n'y en a pas trace dans l'autre. Les deux cultures sont laissées à l'air libre et placées à l'étuve.

15 novembre. — Les deux ballons ont sensiblement le même aspect. Les grumeaux sont peut-être encore un peu plus abondants dans le ballon qui n'a pas été comprimé. Des lambeaux de voile restent adhérents après les parois des ballons, aussi bien de celui qui a subi la compression que de l'autre.

EXPÉRIENCE VII.

Le 4 décembre nous ensemençons deux ballons, et nous les plaçons à l'étuve, l'un à l'air libre, l'autre dans l'air comprimé à cinq atmosphères.

Le 6 décembre, le ballon L renferme une culture plus riche.

Nous faisons une deuxième génération avec chacun des deux ballons, et nous plaçons les cultures filles à l'étuve, toutes deux à l'air libre.

Le 7 décembre, les deux cultures semblent également riches ; elles ont poussé toutes deux en voile. Le voile est plus épais dans la culture fille de la culture L que dans l'autre ; les grumeaux sont plus abondants aussi dans la première que dans la seconde.

Les modifications imprimées à la végétabilité s'atténuent donc rapidement quand on supprime la cause qui les a produites. La compression n'aurait amené dans l'évolution de la culture que des modifications passagères, disparaissant avec elle. Il est juste d'ajouter que, dans nos expériences, les cultures n'ont été soumises que quarante-huit heures à l'action de l'air comprimé et que les modifications survenues ne pouvaient être encore bien profondes. Il est permis de supposer qu'une action plus prolongée et maintenue pendant plusieurs générations successives amènerait des différences beaucoup plus persistantes.

(b) *Sur les cultures sur milieux solides.*

EXPÉRIENCE VIII.

Le 18 mai nous ensemençons deux tubes d'agar et deux tubes de sérum gélinifié avec de la diphtérie. Nous enfermons dans le récipient un des tubes d'agar et un de sérum, et nous comprimons de l'air à six atmosphères. La pression est, le 20, de quatre atmosphères et demie et se maintient à ce chiffre jusqu'au 22 mai.

Le 22 mai nous comparons les tubes :

1° AGAR. — Les colonies se sont beaucoup moins bien dévelop-

pées sur le tube comprimé que sur l'autre. Dans le tube L, la culture forme une trainée continue, blanchâtre, large de 6 à 7 millimètres à la base du tube et s'aminçant progressivement jusqu'à son extrémité, où elle mesure 2 à 3 millimètres. Dans le tube comprimé, les colonies sont restées séparées ; elles apparaissent sous forme de points blanchâtres, de 1 à 2 millimètres de diamètre, isolés, confluent seulement à la base du tube, et se détachant sur une trainée extrêmement pâle.

2° SÉRUM. — Les différences sont absolument les mêmes sur les deux tubes de sérum que sur ceux d'agar.

Nous retrouvons donc, dans l'évolution des cultures, des différences semblables sur les milieux solides et dans les milieux liquides. Le bacille semble avoir plus de peine à se développer dans une atmosphère comprimée qu'à la pression ordinaire : il semble, en somme, placé dans des conditions dysgénésiques.

2° Influence des atmosphères comprimées d'oxygène pur.

EXPÉRIENCE IX.

Le 29 novembre nous ensemençons avec de la diphtérie deux ballons de bouillon et deux tubes d'agar. Un ballon et un tube sont mis dans l'oxygène comprimé à cinq atmosphères.

Le 1^{er} décembre, le ballon L présente un trouble intense, un dépôt de grumeaux assez abondant, pas de voile. Le ballon qui a été soumis à l'oxygène comprimé montre un trouble excessivement faible, peut-être dû à l'ensemencement, qui avait été abondant. Il n'y a pas de grumeaux.

Le tube d'agar qui a été laissé à l'air libre présente une culture très nette, sous forme d'une trainée continue, large de 5 millimètres à sa base et s'aminçant vers le haut, où les colonies, moins denses que vers le bas, forment un pointillé encore très serré.

Dans le tube soumis à l'oxygène comprimé, il n'y a pas la moindre trace de développement.

Cinq atmosphères d'oxygène pur arrêtent donc la végétation du bacille de Loeffler.

La semence est-elle tuée ou simplement engourdie ?

Le ballon et le tube qui avaient été renfermés dans le récipient sont laissés à l'air libre et mis à l'étuve. De plus, nous faisons une seconde génération avec la culture en bouillon dont le trouble est si faible.

Le 4 décembre, le ballon C est absolument dans le même état que le 1^{er} décembre. Le ballon fécondé avec le contenu de ce dernier n'est le siège d'aucune végétation ; de même, le tube d'agar ne présente toujours pas la moindre trace de culture.

Le bacille a donc bien été tué dans le bouillon par l'oxygène pur à cinq atmosphères en l'espace de deux jours et demi.

Qu'advierait-il sous une tension un peu plus faible ?

EXPÉRIENCE X.

4 janvier 1895. — On enseme deux ballons ; l'un est laissé à l'air libre dans l'étuve à 36° ; l'autre est enfermé dans le récipient *ad hoc* et mis dans l'oxygène comprimé à deux atmosphères et demie.

10 janvier. — On ouvre le récipient ; pas trace de végétation dans le ballon comprimé. Il y avait une abondante végétation dans l'autre dès le lendemain.

La semence est tuée ; car le ballon, laissé à l'air libre dans l'étuve pendant quarante-huit heures, reste absolument transparent.

Une tension d'oxygène de deux atmosphères et demie, correspondant à une pression d'air de douze atmosphères et demie environ suffit donc, non seulement pour empêcher le développement d'une culture de diphtérie, mais encore pour tuer les germesensemencés.

Si nous comparons les résultats que nous avons eus pour le bacille de Loeffler avec ceux obtenus par M. Wossnessenski pour le *Bacillus anthracis*, nous constatons une certaine différence dans le degré de résistance qu'opposent ces deux microbes à l'action d'une même cause modificatrice. Tandis que, d'après M. Wossnessenski, le bacille du charbon ne succombe qu'à une pression supérieure à quinze atmosphères d'air ou trois atmosphères d'oxygène pur, il nous a suffi de douze atmosphères et demie d'air, ou deux atmosphères et demie d'oxygène pur, pour obtenir le même résultat avec le bacille de la diphtérie. Celui-ci semble donc plus sensible que le *Bacillus anthracis* à l'action de l'oxygène sous tension augmentée.

§ 2.

Influence des atmosphères comprimées sur la morphologie des individus.

Avant d'exposer les modifications qu'ont subies sous nos yeux les microbes soumis à des atmosphères comprimées, nous allons rappeler en quelques mots l'aspect que présente normalement à l'examen microscopique le bacille de Loeffler.

« Le microbe de la diphtérie.... est à peu près de la longueur du bacille de la tuberculose, mais plus épais ;

ses extrémités arrondies prennent plus fortement la couleur que la partie moyenne. Lorsque la culture est plus âgée, les bâtonnets ne se colorent plus uniformément ; on voit, dans l'intérieur, des grains très foncés qui donnent l'illusion de spores » (1).

« Les bâtonnets, droits ou légèrement courbés,... ont $2,5\ \mu$ à $3\ \mu$ de long sur $0,7\ \mu$ de large et rappellent la forme d'un biscuit. Les extrémités sont bien arrondies et un peu plus larges que le centre. La coloration y laisse des espaces clairs au centre, tandis que les extrémités se colorent fortement. Isolés d'un milieu liquide (bouillon), ils se présentent souvent deux à deux ou quatre par quatre, en petits amas dont les bâtonnets sont parallèles, les uns croisés sur les autres, à angles plus ou moins aigus. Dans les vieilles cultures, on voit des formes d'involution, avec renflements terminaux, en forme de massue, en poire » (2).

Nous avons eu plusieurs échantillons de bacilles de Loeffler : les uns à longs et gros bacilles, d'autres à bacilles plus fins et plus courts ; certains avec des bacilles uniarticulés, d'autres avec des articles et des granulations. Ce sont ces individus que nous avons soumis à des tensions variées d'air atmosphérique ou d'oxygène pur. Nous avons pris des cultures de même âge faites à l'air libre et dans l'air comprimé et nous les avons soumises à l'examen microscopique. Des préparations de chacune de ces cultures étaient montées sur la même lame, juxtaposées pour en faciliter la comparaison.

(1) ROUX et YERSIN, *Contribution à l'étude de la diphtérie*. Annales de l'Institut Pasteur, 1881, p. 632.

(2) WURTZ, *Précis de Bactériologie clinique*, p. 212.

Voici les résultats que nous ont fournis ces examens méthodiques,

1° Air atmosphérique comprimé.

D'une manière générale, dès que la pression arrive au voisinage de cinq atmosphères, et après une durée de deux à huit jours, les bacilles semblent se trouver dans des conditions dysgénésiques. Ils se raccourcissent, paraissent plus trapus ; les individus incurvés forment des arcs d'un très court rayon, s'arcboutant quelquefois avec des individus voisins de manière à constituer des cerceles presque complets, interrompus seulement de distance en distance.

D'autres fois, rapprochés deux par deux, à la manière de diplocoques à articles allongés, les bacilles se disposent parallèlement à des voisins, et forment comme des amas de streptobacilles noyés dans une masse mucilagineuse qui retient une partie de la matière colorante. Enfin, certains articles sont encore plus raccourcis, au point de simuler des microcoques.

Les individus qui restent allongés au milieu des précédents offrent deux altérations principales : la première consiste en une diminution de l'aptitude à fixer les colorants, de sorte qu'ils se détachent dans la préparation sous l'aspect de filaments pâles. La seconde consiste en l'apparition de formes anormales : un filament, par exemple, est comme interrompu par des grains arrondis, qui semblent réaliser l'association du streptocoque et du streptobacille. Certains autres articles prennent la forme de massue, et ces articles en massue sont situés, tantôt

à l'extrémité, tantôt dans la continuité d'une petite chaînette.

A trois atmosphères, les individus sont peu modifiés, mais on constate cependant une tendance au raccourcissement des bacilles. Si les expériences sont faites sur une variété de bacille de Loeffler court et fin, les modifications que nous venons d'exposer sont moins accusées, mais cependant encore assez nettes.

En somme, les modifications morphologiques que l'on observe pendant les premiers jours, sous l'influence d'une atmosphère comprimée, sont les mêmes que lorsqu'on place une culture dans des conditions dysgénésiques.

Nous avons examiné comparativement deux préparations de deux cultures de diphtérie âgées toutes deux de 17 jours. L'une avait végété à l'air libre, l'autre avait été soumise constamment à une pression d'air de sept atmosphères. Les différences que nous avons observées ont été inverses de celles que nous avons rapportées plus haut. Les bacilles qui avaient été laissés à l'air libre présentaient des formes très irrégulières; ils étaient petits, inégaux et ne prenaient que d'une façon très imparfaite la matière colorante; bref, cette préparation venait manifestement d'une vieille culture. Au contraire, dans la culture qui avait été comprimée, les bacilles étaient beaucoup mieux conservés; au milieu de nombreux microbes raccourcis, trapus et de formes anormales, on pouvait voir des individus très grands, parfaitement réguliers; tous étaient encore très bien colorés. Ces faits s'accordent bien avec ce que nous avons constaté pour l'aspect macroscopique des cultures : nous avons vu que,

de deux cultures également anciennes et datant de quinze jours environ, celle qui avait été soumise à une atmosphère d'air comprimé avait l'aspect beaucoup plus jeune que l'autre. Il n'y aurait donc rien d'étonnant à ce que ces différences que nous trouvons dans l'aspect de la culture, qui n'est autre chose qu'une collection d'individus, nous les retrouvions également dans chaque individu en particulier.

2° Oxygène pur comprimé.

L'expérience nous a montré que, dans une atmosphère d'oxygène pur, à la tension de cinq atmosphères, la végétation ne tarde pas à s'arrêter, de sorte que les bouillons ne présentent qu'un trouble extrêmement léger après un séjour de quarante-huit heures sous cette tension. Si l'on examine au microscope la culture après coloration au violet de gentiane, on s'aperçoit que les microbes qu'on y aensemencés ou qui avaient pris naissance par un commencement de végétation offrent des modifications morphologiques plus ou moins profondes.

Quelques rares individus ont conservé leurs dimensions primitives ; mais ils ont pris à peine la matière colorante. Le plus grand nombre a subi des changements de forme très marqués ; les uns sont de très fins et très courts bacilles isolés ou rapprochés en petits groupes. D'autres, peu nombreux, ressemblent à des diplocoques ou à des microcoques. On aurait peine à reconnaître, dans ces individus, le bacille de Loeffler qui a servi de semence. Nous devons rappeler que ces formes dégénérées appartenaient à des individus morts ; car abandonnés

à l'air libre ou ensemencés dans un nouveau milieu, ils n'ont été susceptibles d'aucune prolifération.

M. L. Martin écrit que les bacilles courts, que l'on rencontre dans la diphérie sont des bacilles de Loeffler dégénérés. Il en a opéré lui même la transformation en cultivant des bacilles longs sur une couche de gélose imprégnée de bouillon de veau.

Cette transformation, on le voit, peut-être obtenue en augmentant la pression d'une atmosphère d'air pur au-dessus des cultures en bouillon.

CHAPITRE II

Influence des atmosphères comprimées d'air pur et d'oxygène pur sur la virulence et la toxicité des cultures du bacille de Lœffler.

§ 1^{er}.

1° Influence de l'air comprimé sur la virulence des cultures.

La virulence des cultures étant, pour le bacille de la diphtérie, plus encore peut-être que pour d'autres microbes, extrêmement variable avec les divers échantillons considérés, nous n'avons procédé à nos recherches que par des inoculations comparatives. Deux cultures sœurs, placées l'une à l'air libre, l'autre dans l'air comprimé, étaient inoculées en quantités égales à des cobayes de poids égaux. Les doses variaient selon les expériences. Le moment de la mort des animaux ou l'état local des points inoculés étaient soigneusement notés, afin d'établir la comparaison entre la virulence de l'une et de l'autre culture.

A.

Nous avons d'abord voulu connaître l'influence que peuvent exercer des pressions variées sur des cultures

âgées de vingt-quatre heures. Voici comment nous avons procédé.

EXPÉRIENCE XI.

Aussitôt que les cultures avaient séjourné vingt-quatre heures à l'étuve et dans l'air comprimé, elles étaient portées dans le caveau à la température constante de 5°. Les générations nouvelles étaient toutesensemencées avec la culture faite à l'air libre dès le premier jour.

Le 22 février 1897, nous choisissons six cobayes et nous injectons à chacun $\frac{1}{2}$ centimètre cube de culture à raison de 500 grammes de poids vif.

Cobaye n° 1,	$\frac{1}{2}$ cent.	cube de culture	à l'air libre.		
— n° 2,	$\frac{1}{2}$	—	—	à 1	atmosphère.
— n° 3,	$\frac{1}{2}$	—	—	à 2	—
— n° 4,	$\frac{1}{2}$	—	—	à 3	—
— n° 5,	$\frac{1}{2}$	—	—	à 4	—
— n° 6,	$\frac{1}{2}$	—	—	à 5	—

Aucun de ces six animaux ne succomba; aucun ne présenta même de symptôme local. La virulence de notre échantillon de diphtérie était beaucoup trop faible.

L'expérience précédente n'ayant pu nous fournir de résultat pour le but que nous avions en vue, nous essayons d'éprouver le degré d'immunité conféré à ces six animaux par les inoculations qu'ils ont subies.

Le 17 mars, nous inoculons les six cobayes et un témoin avec $\frac{1}{4}$ de centimètre cube d'une culture datant de vingt-quatre heures, extrêmement virulente.

19 mars, matin. — Mort des numéros 1, 2, 4, 6.

20 mars, 3 heures. — Mort du témoin.

21 mars. — Mort, dans la soirée, du numéro 5.

25 mars. — Mort du numéro 3.

Il est impossible de tirer aucune conclusion de cette expérience.

EXPÉRIENCE XII.

6 mars. — Nous semons un bacille diphtérique très actif dans deux ballons de bouillon fort. L'un est mis à l'air libre, l'autre enfermé dans le récipient, où l'on comprime de l'air à quatre atmosphères.

8 mars. — Les cultures, âgées de quarante-huit heures, sont inoculées à deux cobayes.

Cobaye n° 1. — 2 gouttes de culture à l'air libre.

— n° 2. — 2 — à l'air comprimé à 4 atm.

9 mars. — Dans la soirée, mort du cobaye n° 2 inoculé avec la culture faite sous quatre atmosphères de pression.

10 mars. — Le cobaye n° 1 résiste, mais il est hérissé et très malade. Il meurt à midi, avec un œdème local plus considérable que sur l'autre.

8 mars. — Nous faisons une culture de deuxième génération avec chacune des précédentes ; l'une est placée à quatre atmosphères, l'autre laissée à l'air libre.

10 mars. — Ces deux nouvelles générations, âgées aussi de 48 heures, sont inoculées à deux cobayes.

Cobaye n° 1. — 1 goutte de culture à l'air libre.

— n° 2. — 1 — à l'air comprimé à 4 atm.

12 mars. — Le cobaye n° 2 est mort vers midi, avec un fort gonflement de la cuisse.

Le cobaye n° 1 n'est pas mort ; mais sa cuisse est énorme, œdémateuse ; l'œdème n'a pas de tendance à se limiter ; par conséquent, le pronostic est grave.

Donc la chose se confirme : au bout de deux jours, la culture qui a poussé dans de l'air comprimé à quatre atmosphères est plus virulente que celle qui a végété à l'air libre.

Le cobaye n° 1 meurt dans la nuit du 13 au 14 juillet.

12 mars. — Nous essayons la virulence des cultures de troisième génération faites à l'air libre et à quatre atmosphères le 10 mars ; elles ont donc aussi 48 heures.

Cobaye n° 1. — 1 goutte de culture à l'air libre.

— n° 2. — 1 — — à l'air comprimé à 4 atm.

13 mars. — Le cobaye n° 2 est hérissé et paraît très malade.

14 mars, 8 heures du matin. — Les deux cobayes sont trouvés morts ; mais il est vraisemblable que le n° 2 est mort le premier, puisqu'il donnait déjà des signes graves la veille.

27 mars. — Deux ballons ont étéensemencés le 12 mars avec les cultures de l'expérience précédente et placés à l'étuve, l'un à l'air libre, l'autre à cinq atmosphères dans le récipient. Ces cultures, âgées aujourd'hui de quinze jours, sont des quatrièmes générations. Nous essayons leur virulence comparative, afin de voir si l'air comprimé a exercé une influence sur la conservation de cette propriété.

Cobaye n° 1. — 1 goutte de la culture à l'air libre.

— n° 2. — 1 — — à l'air comprimé à 5 atm.

Aucun de ces animaux n'a succombé.

EXPÉRIENCE XIII.

Le 18 mai 1897, nous ensemençons deux ballons de bouillon avec de la diphtérie. L'un est enfermé dans le récipient sous une pression de six atmosphères ; l'autre, laissé à l'air libre. La pression du récipient est tombée le 20 à $4\frac{1}{2}$ atmosphères, et se maintient à ce chiffre jusqu'au 22 mai.

Le 22 mai au soir, le récipient est ouvert, et les deux cultures sont placées dans la glace jusqu'au lendemain.

Le 23 mai, nous essayons la virulence comparative de ces deux cultures, en les inoculant à quatre cobayes de la façon suivante :

Cobaye n° 1, 1 c. c. de culture à l'air comprimé (10 h. 30).

— — 2, 1 — — — libre —

— — 3, $\frac{1}{2}$ — — — comprimé —

— — 4, $\frac{1}{2}$ — — — libre —

Le 24 mai, le cobaye n° 1 est trouvé mort le matin. Il est très froid; il a dû mourir vers le milieu de la nuit. La cuisse inoculée est très tuméfiée.

Le cobaye n° 2 meurt à 9 h, $\frac{1}{2}$ du matin; la tuméfaction de la cuisse est moins forte.

Le cobaye n° 3 meurt à 2 heures de l'après-midi. L'œdème de la cuisse n'est pas très considérable.

Le cobaye n° 4 a résisté à l'inoculation.

EXPÉRIENCE XIV.

Le 7 décembre, nous ensemençons deux ballons avec de la diphtérie. L'un est laissé à l'air libre, l'autre mis dans l'air comprimé à six atmosphères.

Le 10 décembre, à 3 heures de l'après-midi, les cultures sont inoculées à six cobayes, savoir :

Cobaye témoin n° 1, $\frac{1}{8}$ de c. c. de la culture à l'air libre.

— — — 2, $\frac{1}{8}$ — — — —

Cobaye n° 1, $\frac{1}{8}$ de c. c. de la culture à l'air comprimé.

— — 2, $\frac{1}{8}$ — — — —

— — 3, $\frac{1}{10}$ — — — —

— — 4, $\frac{1}{10}$ — — — —

Le 11 décembre, le cobaye n° 1 ($\frac{1}{8}$ c. c. de culture comprimée) meurt à 2 heures de l'après-midi.

Le cobaye n° 3 ($\frac{1}{10}$ c. c. de culture comprimée) meurt à 4 h.

Le cobaye n° 4 ($\frac{1}{10}$ c. c. de culture comprimée) meurt à 5 h.

Le cobaye n° 2 est très malade à 6 heures du soir.

Le 12 décembre, les trois derniers cobayes sont trouvés morts.

Le cobaye n° 2 est très froid ; il a dû mourir dans la soirée de la veille.

Le cobaye témoin n° 1 est encore chaud ; sa mort est relativement récente.

Le cobaye témoin n° 2 est très chaud ; il y a très peu de temps qu'il est mort.

Dans les expériences que nous venons d'exposer, la culture placée à l'air comprimé a été soumise à une pression voisine de cinq atmosphères, maintenue pendant une durée *qui ne dépassa pas quatre jours*.

Dans ces conditions, les animaux inoculés avec la culture comprimée sont toujours morts avant ceux qui avaient reçu la même dose d'une culture sœur laissée à l'air libre. *L'air comprimé agissant pendant quatre jours a donc produit une augmentation de la virulence.*

B.

Les résultats seront-ils les mêmes si l'action de l'air comprimé est maintenue plus longtemps ?

EXPÉRIENCE XV.

Le 7 décembre 1897, nous ensemençons deux ballons. Celui qui doit être comprimé est soumis à six atmosphères. Le 10 décembre, nous prélevons une petite quantité de ces cultures pour faire les inoculations de l'expérience XIV. Puis nous replaçons les cultures à l'étuve, en portant la pression du récipient à sept atmosphères. Elles y restent encore dix jours.

Le 20 décembre, les cultures, âgées de treize jours, sont inoculées à six cobayes :

Cobaye n° 1,	$\frac{1}{8}$ de cent. cube de la culture à l'air comprimé.		
— n° 2,	$\frac{1}{8}$	—	—
— n° 3,	$\frac{1}{20}$	—	—
— n° 4,	$\frac{1}{8}$	—	à l'air libre.
— n° 5,	$\frac{1}{8}$	—	—
— n° 6,	$\frac{1}{20}$	—	—

Le 3 janvier 1898, le cobaye n° 4, qui a reçu $\frac{1}{8}$ de centimètre cube de la culture à l'air libre, meurt dans la matinée. La cuisse inoculée est énorme et très dure.

Le cobaye n° 5, qui a reçu la même dose de la même culture, a aussi la cuisse inoculée très volumineuse.

Les autres animaux ne présentent pas d'accident local appréciable.

Dans cette expérience, les résultats sont donc inverses de ceux des expériences précédentes. Si l'on se rapporte à l'expérience XIV, où les inoculations ont été faites avec les mêmes cultures âgées seulement de trois jours au lieu de treize, on voit que, sans doute, les deux cultures se sont atténuées en vieillissant, mais que la culture soumise à l'air comprimé l'est beaucoup plus que celle laissée à l'air libre, puisque cette dernière seule se montre active.

EXPÉRIENCE XVI.

Le 12 janvier 1897, nous ensemençons deux ballons. La pression du récipient est portée à cinq atmosphères. Comme l'appareil perd un peu à cette pression, celle-ci varie de 3 $\frac{1}{2}$ à 5 atmosphères du 12 au 17 janvier.

Le 17 janvier, les cultures, âgées de *cinq jours*, sont inoculées à deux cobayes :

Cobaye n° 1, $\frac{1}{3}$ de c. c. de la culture à l'air libre.

— — 2, $\frac{1}{3}$ — — — comprimé.

Le 18 janvier, les deux cobayes sont vivants. Le cobaye n° 1 n'a pas d'accident local sensible. Le cobaye n° 2 a la cuisse gonflée, mais le gonflement est assez mou.

Le 19 janvier, le cobaye n° 2 (culture comprimée) est trouvé mort à 9 heures du matin.

Le 20 janvier, le cobaye n° 1 est encore vivant à 10 heures du matin ; mais il est très malade, très essouffé. L'œdème local n'est pas très considérable. L'animal meurt à midi, avec un ralentissement considérable de la respiration.

EXPÉRIENCE XVII.

Le 21 janvier, nous fécondons un nouveau ballon avec la culture faite à l'air libre, et un autre avec la culture faite à l'air comprimé. Ce sont des deuxièmes générations. La pression de l'appareil est portée à quatre atmosphères.

Le 23 janvier, les cultures, âgées de huit jours, sont inoculées à deux cobayes :

Cobaye n° 1, $\frac{1}{4}$ de c. c. de la culture à l'air libre.

— — 2, $\frac{1}{4}$ — — — comprimé.

Le 29 janvier, le cobaye n° 1 (air libre) meurt à 2 heures avec un œdème mou de la cuisse, s'étendant sous le ventre.

Le 31 janvier, non seulement le cobaye n° 2 est encore vivant, mais il n'a pas le plus petit engorgement du membre inoculé.

7 février. Le cobaye n° 2 est encore vivant et se porte très bien.

EXPÉRIENCE XVIII.

Le 28 janvier, nous faisons des troisièmes générations avec les cultures précédentes, dans les conditions habituelles. La pression du récipient est portée à 4 $\frac{1}{2}$ atmosphères pendant huit jours.

Le 5 février, nous comparons la virulence des cultures en les inoculant à six cobayes de la façon suivante :

CULTURE A L'AIR LIBRE			CULTURE A L'AIR COMPRIMÉ		
Cobaye n° 1.....	5	gouttes	Cobaye n° 1'.....	5	gouttes
— 2.....	4	—	— 2'.....	10	—
— 3.....	2	—	— 3'.....	20	—
7 Février. — Le n° 1 seul a du gonflement mou de la cuisse.			7 Février. — Les n°s 2' et 3' ont un léger gonflement du bord postérieur de la cuisse.		
9 Février. — Le n° 1 a la cuisse gonflée en arrière.			9 Février. — Le n° 3' a la cuisse gonflée en arrière.		
15 Février. — Mort du n° 1. La cuisse inoculée est volumineuse et dure.			14 Février. — Mort du n° 3'. La cuisse inoculée est volumineuse et dure.		
18 Février. — Rien sur le n° 2. Rien sur le n° 3.			18 Février. — Rien sur le n° 1'. Rien sur le n° 2'.		

D'après ce second groupe d'expériences, où nous avons suivi l'action de l'air comprimé agissant pendant sept à huit jours sur plusieurs générations successives, nous voyons que, dans la première génération (cinq jours de compression), la culture comprimée s'est encore montrée plus active. Dès la deuxième génération (sept jours de compression), c'est l'inverse qui se produit. Enfin, à la troisième génération, il faut vingt gouttes de culture comprimée pour tuer le cobaye au bout de neuf jours, alors que cinq gouttes de la culture à l'air libre suffisent pour tuer le cobaye au bout de dix jours. La culture comprimée est environ quatre fois moins active que l'autre.

Dans les expériences A, c'était l'inverse qui se produisait; la culture comprimée se montrait plus virulente; elle n'était soumise à l'air comprimé que trois à quatre jours. Dans une de ces expériences (expérience XII), nous avons suivi l'influence de la compression sur plusieurs générations successives; celles-ci se sont montrées plus

actives que des cultures sœurs, laissées à l'air libre ; c'est que ces cultures n'étaient âgées que de quarante-huit heures.

Dans les expériences *B*, au contraire, où trois générations successives ont été soumises cinq, sept et huit jours à l'air comprimé, l'atténuation a été manifeste dès la deuxième génération.

Nous pouvons donc tirer de ces faits des conclusions semblables à celles de M. Chauveau pour le *Bacillus anthracis* ; c'est que le premier effet de l'air comprimé sur une culture de diphtérie est d'en augmenter la virulence, mais qu'à cette première phase en succède bientôt une seconde, celle de l'atténuation.

§ 2.

Influence sur la toxicité du bouillon de culture et sur la virulence du bacille pur.

Les accidents que produit le virus diphtérique sont dus à la fois au bacille, et à l'action non moins importante de ses produits solubles. Il était, dès lors, intéressant de connaître la part qui, dans les résultats de nos inoculations, revenait au microbe, et celle qui revenait à la toxine, puis dans quelle mesure les modifications que nous avions observées s'appliquaient à l'un ou à l'autre.

Nous avons d'abord cherché quelle pouvait être l'influence de l'oxygène sur une toxine diphtérique toute formée, et nous avons étudié ensuite l'action de l'air comprimé : 1° sur la formation de la toxine diphtérique ; 2° sur la virulence du bacille séparé de ses produits solubles.

1^o Influence de l'oxygène comprimé sur la toxine diphérique.

Pour cette étude, nous avons opéré avec une toxine filtrée; comme nous avons fait pour les cultures complètes.

EXPÉRIENCE XIX.

Le 20 novembre 1897, nous prenons deux ballons d'une contenance de 60 centimètres cubes, remplis jusqu'à moitié d'une toxine très active, préparée depuis un mois. Nous plaçons un des ballons dans le récipient, où nous comprimons de l'oxygène pur à cinq atmosphères; nous l'y laissons *six jours*.

Le 26 novembre, à 5 heures 1/2, nous ouvrons le récipient et nous inoculons quatre cobayes avec les deux toxines de la façon suivante :

Cobaye n ^o 1,	$\frac{2}{10}$ de cent. cube de toxine	à l'air libre.
— n ^o 2,	$\frac{2}{10}$	— à l'oxygène comprimé.
— n ^o 3,	$\frac{4}{10}$	— à l'air libre.
— n ^o 4,	$\frac{4}{10}$	— à l'oxygène comprimé.

Le 27 novembre, le cobaye n^o 3 (toxine à l'air libre) meurt à 5 heures de l'après-midi.

Le 28 novembre, à 7 heures du matin, les cobayes n^{os} 1, 2 et 4 sont trouvés morts. Ils sont tous aussi froids; il est impossible de savoir dans quel ordre leur mort est survenue.

La toxine laissée à l'air libre semble s'être montrée légèrement plus active; mais il ne nous est guère permis de tirer une conclusion de cette unique expérience.

2^o Influence de l'air comprimé sur la formation de la toxine diphérique et sur la virulence du bacille.

Les deux cultures qui devaient nous fournir des toxines étaient contenues dans deux grands ballons de 250 centi-

mètres cubes, afin que la surface du liquide fût plus étendue. L'une de ces cultures a été soumise pendant toute la durée de la végétation à l'influence de l'air comprimé.

EXPÉRIENCE XX.

Le 19 décembre 1897, les cultures ayant servi aux expériences XIV et XV sont filtrées sur porcelaine. Nous recueillons le bouillon filtré. Puis, nous lavons les microbes restés sur le filtre avec une quantité d'eau stérilisée égale à la quantité de culture complète, afin de bien débarrasser les microbes de la toxine qu'ils auraient pu retenir. Nous recueillons alors le dépôt de microbes. Nous opérons d'une façon identique, pour la culture laissée à l'air libre comme pour celle qui a été placée treize jours dans l'air comprimé à sept atmosphères.

Nous prenons trois petits tubes de verre A, B, C, de même calibre. Dans le tube A, nous mettons une petite quantité d'une des cultures, que nous avons conservée avant la filtration, comme échantillon ; dans les tubes B et C, des quantités égales d'eau stérilisée. Puis, nous émulsionnons dans le tube B un peu du dépôt des bacilles à l'air libre ; dans le tube C, un peu du dépôt des bacilles comprimés, de façon que le trouble soit égal dans les trois tubes.

Le 20 décembre, nous inoculons alors le contenu des tubes B et C à six cobayes, savoir :

BACILLE A L'AIR LIBRE				BACILLE A L'AIR COMPRIMÉ			
Cobaye n° 1,	$\frac{1}{3}$	de cent. cube.		Cobaye n° 4,	$\frac{1}{3}$	de cent. cube.	
—	n° 2,	$\frac{1}{6}$	— —	—	n° 5,	$\frac{1}{6}$	— —
—	n° 3,	$\frac{1}{12}$	— —	—	n° 6,	$\frac{1}{12}$	— —

Aucun de ces animaux n'a présenté de réaction sensible.

Le 3 janvier 1898, ils sont encore très bien portants.

Les quantités de microbes inoculés, que nous avons calculées d'après la virulence de la culture jeune essayée dix jours auparavant, étaient trop faibles. Le temps nous a malheureusement fait défaut pour commencer complètement cette expérience.

EXPÉRIENCE XXI.

Le 20 décembre, nous inoculons à six cobayes les toxines que nous avons filtrées précédemment.

TOXINE A L'AIR LIBRE			TOXINE A L'AIR COMPRIMÉ		
Cobaye n° 1,	$\frac{1}{8}$ de cent.	cub.	Cobaye n° 4,	$\frac{1}{8}$ de cent.	cube.
—	2, $\frac{1}{10}$	—	—	5, $\frac{1}{10}$	—
—	3, $\frac{1}{20}$	—	—	6, $\frac{1}{20}$	—

Aucun de ces animaux n'a succombé. Les doses étaient trop faibles, les toxines se montrant peu actives.

EXPÉRIENCE XXII.

Le 27 décembre, nous recommençons l'expérience précédente, avec les doses suivantes :

TOXINE A L'AIR LIBRE			TOXINE A L'AIR COMPRIMÉ		
Cobaye n° 1,	$\frac{1}{3}$ de cent.	cube	Cobaye n° 2,	$\frac{1}{3}$ de cent.	cube..
—	3, $\frac{1}{4}$	—	—	4, $\frac{1}{4}$	—
—	5, $\frac{1}{6}$	—	—	6, $\frac{1}{6}$	—

Le 28 décembre, le cobaye n° 1 (toxine à l'air libre) a la cuisse inoculée énorme, très dure, douloureuse. Le cobaye n° 2 (même dose de toxine comprimée), n'a pas le moindre accident local.

Le cobaye n° 3 (air libre) a la cuisse droite très volumineuse, dure, douloureuse. Pas le moindre accident local chez le cobaye n° 4 (air comprimé).

Le cobaye n° 5 (air libre) a un léger œdème en arrière de la

cuisse droite, qui est douloureuse. Rien chez le cobaye n° 6 (air comprimé).

Le 1^{er} janvier 1893, le cobaye n° 1 (air libre) meurt à 2 heures de l'après-midi. Le cobaye n° 3 (air libre) est très malade; il a un œdème énorme de la cuisse, s'étendant jusque sur l'abdomen, et un sphacèle de la peau au point d'inoculation.

EXPÉRIENCE XXIII.

Le 29 décembre, nous recommençons la même expérience avec des doses encore plus élevées.

TOXINE A L'AIR LIBRE	TOXINE A L'AIR COMPRIMÉ
Cobaye n° 1, 1 cent. cube.	Cobaye n° 2, 1 cent. cube. ;
— n° 3, 2 cent. cubes.	— n° 4, 2 cent. cubes.

Le 31 décembre, le cobaye n° 3 (2 cent. cubes de toxine à l'air libre) est trouvé mort.

Le 2 janvier, deux cobayes sont trouvés morts. Ce sont les n° 1 (1 cent. cube de toxine à l'air libre) et n° 2 (1 cent. cube de toxine comprimée).

La mort du n° 2 avant le n° 4, qui a reçu une dose double de la même toxine, est difficile à expliquer.

En somme, dans l'expérience XXII, les animaux inoculés avec la toxine sécrétée dans l'air comprimé n'ont pas eu de réaction appréciable, tandis que ceux inoculés avec la toxine sécrétée à l'air libre sont morts ou ont eu une lésion locale importante.

Dans la dernière expérience, les animaux inoculés avec la toxine à l'air libre ont succombé tous deux, tandis que, des deux autres il n'en est mort qu'un; et encore cette mort est-elle suspecte, puisque c'est le

cobaye qui a reçu la dose la plus faible qui a succombé, tandis que l'autre, ayant reçu une dose double, a résisté à l'inoculation.

Ces expériences ne sont pas assez nombreuses pour nous permettre de conclure d'une façon décisive. Cependant nous pouvons dire que, dans les conditions où nous nous sommes placé, le bacille de la diphtérie semble, sous l'influence de l'air comprimé, sécréter une quantité moins grande de toxine, ou une toxine atténuée dans ses propriétés.

CONCLUSIONS

I. — L'air comprimé à une tension voisine de cinq atmosphères retarde la prolifération d'une culture de diphtérie. Une atmosphère d'oxygène pur arrête tout développement et tue la semence, dès que sa tension atteint deux atmosphères et demie.

II. — Les bacilles évoluant sous l'influence de l'air comprimé subissent les modifications morphologiques produites par d'autres conditions dysgénésiques.

Les bacilles adultes placés dans l'oxygène pur subissent aussi les mêmes transformations et ne tardent pas à périr.

III. — Le premier effet d'une atmosphère d'air comprimé sur la virulence d'une culture est de l'exalter ; lorsque son action est plus prolongée, elle l'atténue.

IV. — Une culture de diphtérie végétant dans une atmosphère d'air comprimé semble sécréter une quantité moins grande de toxine ou une toxine atténuée dans ses propriétés.

Vu :

Le Président de Thèse,
S. ARLOING.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,
LORTET.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur.
G. COMPAYRÉ.

TABLE DES MATIÈRES

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE.....	7
-----------------	---

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES.....	36
CHAPITRE PREMIER. — Influence des atmosphères comprimées d'air pur et d'oxygène pur sur la végétation et la morphologie du bacille de Lœffler.....	36
§ 1 ^{er} . — Influence des atmosphères comprimées sur la végétation des cultures en milieux liquides et sur milieux solides.....	36
1 ^o Influence des atmosphères comprimées d'air pur :	
a) Sur les cultures en milieux liquides.....	38
b) Sur les cultures sur milieux solides.....	43
2 ^o Influence des atmosphères comprimées d'oxygène pur.....	44
§ 2. — Influence des atmosphères comprimées sur la morphologie des individus.....	46
1 ^o Air atmosphérique comprimé.....	48
2 ^o Oxygène pur comprimé.....	50
CHAPITRE II. — Influence des atmosphères comprimées d'air pur et d'oxygène pur sur la virulence et la toxicité des cultures du bacille de Lœffler.....	52
§ 1 ^{er} Influence de l'air comprimé sur la virulence des cultures.....	52
§ 2. Influence sur la toxicité du bouillon de culture et sur la virulence du bacille pur.....	64
1 ^o Influence de l'oxygène comprimé sur la toxine diphtérique.....	62
2 ^o Influence de l'air comprimé sur la formation de la toxine diphtérique et sur la virulence du bacille.....	62
CONCLUSIONS.....	67



